



## Efecto del almacenamiento congelado sobre los parámetros de calidad y textura de moras (*Rubus sp*) del noreste argentino

Fernández N.L.<sup>(1)</sup>, Montenegro S.<sup>(2)</sup>, Yamul D.K.<sup>(3)</sup>, Navarro A.S.<sup>(3)(4)</sup>

(1) Facultad de Ingeniería en Alimentos. Universidad Nacional del Chaco Austral, CONICET.

(2) Facultad de Ingeniería en Alimentos. Universidad Nacional del Chaco Austral

(3) CIDCA, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP, CCT La Plata, CONICET.

(4) Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de La Plata.

Dirección de e-mail: [albanavarro@conicet.gov.ar](mailto:albanavarro@conicet.gov.ar)

### Resumen

La utilización de frutas regionales brinda una alternativa para el desarrollo de alimentos con un grado mínimo de procesamiento, alto valor nutricional y propiedades organolépticas similares a las del producto fresco. La mora (*Rubus sp.*) es una fruta de la familia de las berries, posee vitamina C y alto contenido de antocianinas y polifenoles. Durante el procesamiento y almacenamiento de alimentos a base de esta fruta se pueden alterar la concentración y actividad biológica de sus compuestos activos. El objetivo fue seleccionar moras en dos estados de madurez, someterlas a almacenamiento congelado, determinar el contenido de polifenoles, parámetros fisicoquímicos y de textura. Se recolectaron manualmente 2 lotes (verde y maduro) de 15 frutas cada uno en la provincia del Chaco. La mitad de cada lote se almacenó a -20°C por 30 días. Se midió altura y diámetro de las frutas con un calibre. Se analizó el pH, acidez titulable, grados Brix con refractómetro y grado de madurez (ratios). El color superficial de las frutas fue determinado con un colorímetro de superficie y se realizaron ensayos de punción en texturómetro. Se procesaron las pulpas y se determinó el contenido de polifenoles en los extractos por el método de Folin-Ciocalteu. Las moras maduras presentaron mayor longitud (24,89mm) y mayor diámetro (13,51mm). Los valores de pH, acidez, grados Brix y ratios no mostraron diferencias significativas entre los lotes de moras verdes frescas y congeladas por un lado y moras maduras frescas y congeladas por otro lado. Sin embargo, se observaron diferencias significativas en dichos parámetros al analizar los lotes de moras verdes y moras maduras sean frescas o congeladas. Los parámetros de color  $a^*$ ,  $b^*$  y  $L^*$  fueron menores en el caso de las moras maduras, además la congelación disminuyó el parámetro  $L^*$  tanto en las moras verdes como en las maduras. Las moras frescas presentaron valores de fuerza máxima de punción de 6N y 3N para las verdes y maduras, respectivamente. Por otro lado, el almacenamiento a -20°C debilitó la estructura de estos frutos viéndose reflejado en los menores valores de fuerza máxima de punción obtenidos (3N y 0,3N para verdes y maduras, respectivamente). El contenido de polifenoles de moras en los dos estados de madurez fue mayor luego de la congelación. Los resultados indican que el método de congelación es apropiado para mantener la acidez, el pH, grados Brix, grado de madurez y elevado contenido de polifenoles de las moras por lo que estas frutas

preservadas en estado congelado pueden considerarse para la elaboración de alimentos de alto valor nutricional.

**Palabras clave:** Mora, Congelación, Parámetros fisicoquímicos, Textura.

## Introducción

Las moras son frutas de fácil cultivo y extremadamente tolerantes a condiciones del sitio y suelo. Contienen un alto nivel de fructosa, factor fisiológico importante que determina la calidad de la fruta como postre (Kafkas et al., 2006). Estudios recientes han indicado que los extractos de moras tienen varias actividades biológicas y atenúan el estrés oxidativo (Chen et al., 2016). Las moras se cultivan y consumen a nivel mundial debido a su buen sabor y alto contenido de compuestos bioactivos naturales como fibra, vitaminas, fitoesteros, carotenoides y ácidos orgánicos, que pueden tener efectos beneficiosos para la salud humana (Ríos de Souza et al., 2014). Los alimentos funcionales a base de estas frutas pueden aportar gran cantidad de compuestos bioactivos como vitaminas, minerales, antioxidantes y fibra, que incrementan el valor nutricional (Sun-Waterhouse et al., 2011). Los frutos de la familia de las berries se caracterizan por ser frutos no climatéricos de vida útil muy corta, estructura morfológica frágil, enfrentan continuos cambios fisicoquímicos y de firmeza que afectan su aceptabilidad, calidad y tiempo de permanencia en anaquel, situación que en conjunto afectan su precio (Samec y Piljac-Zegarac, 2011).

En frutas de textura delicada y susceptibles al manejo y transporte, se producen pérdidas físicas y de calidad del producto después de recolectados (Veberic et al., 2014). La textura es uno de los atributos de calidad organoléptica apreciados por el consumidor de frutas y el principal contribuyente a la textura de las frutas frescas es la presión de turgencia celular. Durante la congelación, el hielo comienza a formarse en el medio extracelular y cuando la membrana celular pierde permeabilidad, progresa a través del citoplasma. La descompartimentalización causada por los cristales de hielo impide el retorno de agua del medio intracelular durante la descongelación, causando pérdida de turgencia y, por lo tanto, de textura de la fruta. La tasa de congelación determina el tamaño de los cristales de hielo que se forman, y esto a su vez determina el grado de daño estructural, que produce un cambio en los parámetros reológicos del tejido (Sousa et al., 2007). Es importante adquirir información que permita precisar el punto óptimo de recolección y determinar si la congelación es apta como un proceso de conservación que servirá de sustento a futuros procesos de comercialización, investigación y desarrollo de alimentos funcionales. El objetivo de este trabajo fue seleccionar frutos de moras en diferentes estados de madurez, someterlos a almacenamiento congelado, determinar el contenido de polifenoles y sus parámetros fisicoquímicos y de textura.



## Materiales y Métodos

### *Recolección de la materia prima*

Se recolectaron manualmente 2 lotes (verde-maduro y maduro) de 15 frutas cada uno en la provincia del Chaco, zona con temperatura media de 21,5°C y 74% de humedad relativa promedio anual. La recolección se realizó en los meses de septiembre y octubre (2016), temporada de fructificación de las plantas. El lote 1 correspondió al estado verde-maduro, con 100% de superficie rosada-rojiza y el lote 2 al estado maduro, con su superficie 100% morada oscura. La recolección de las moras se realizó en forma manual, utilizando una tijera para realizar cortes en los tallos del producto evitando roturas y daños por extirpación. Los frutos recolectados fueron transportados en pots plásticos hasta las instalaciones del laboratorio de la Universidad Nacional del Chaco Austral (UNCAus) para su procesamiento y análisis. La mitad de cada lote se almacenó en cámara a -20°C durante 30 días, obteniéndose moras verde-maduras congeladas (MoVC) y moras maduras congeladas (MoMC). El resto de las frutas fueron conservadas a 4°C y analizadas dentro de los 2 días posteriores a la cosecha, estas moras se identificaron como moras verde-maduras frescas (MoVF) y moras maduras frescas (MoMF). Las moras se almacenaron enteras debido a su estructura morfológica y tamaño que impide la división y separación de las semillas.



**Figura 1.** Fotografías que muestran el procesamiento de las muestras y obtención de los extractos.

### *Determinación de las características fisicoquímicas de los frutos*

Se determinó la altura y el diámetro de las moras utilizando un calibre electrónico digital (Schwiz, Argentina). La determinación del peso de las moras se efectuó en una balanza electrónica (OHAUS, China) con precisión  $\pm 0,0001$  g.

Luego las frutas fueron apartadas de sus receptáculos y procesadas con procesadora manual (Philips, 220-240V 700W, Argentina) obteniendo el jugo y la pulpa. Se cuantificó el peso de zumo y pulpa y se determinó el rendimiento de fruta según el grado de madurez. Se analizó la variación de pH con peachímetro (Lutron, modelo WA-2011, EE.UU.), acidez titulable por volumetría (Norma IRAM 15735) y grados Brix con refractómetro de Abbe (NAR-1T, Atago, EE.UU.). El grado de madurez (ratio) se obtuvo a través de la relación entre el valor mínimo de sólidos solubles totales (°Brix) y el valor máximo de acidez.



Se realizaron ensayos de color en la superficie de las frutas y en pulpas, la medición de diferentes segmentos se realizó con un colorímetro de superficie (Minolta, Japón), obteniendo valores de las coordenadas  $L^*a^*b^*$  de las superficies de las muestras tratadas. El parámetro  $L^*$  representa la luminosidad de la muestra, tomando valores entre 0 para el negro y 100 para el blanco. El parámetro  $a^*$  representa rojo para valores positivos y verde para los negativos, mientras que  $b^*$  define amarillo para los valores positivos y azul para los valores negativos.

### *Análisis de las propiedades de textura de frutos enteros y pulpas*

Para una evaluación objetiva de las propiedades de textura de los frutos se realizaron pruebas de punción en un texturómetro (Texture Analyzer TA.X2Ti, Stable Micro Systems, Reino Unido). Se midió la fuerza en compresión con una velocidad de pre-ensayo de 5mm/s, velocidad de ensayo de 1 mm/s, velocidad de post-ensayo de 5 mm/s, distancia 50%, fuerza 0,05 N, velocidad de adquisición 10 pps. Las condiciones del ensayo se mantuvieron constantes teniendo en cuenta que las moras fuesen similares en cuanto a color y tamaño. El ensayo se llevó a cabo a 25°C y se utilizó una sonda de punción múltiple (P/50). Las moras fueron analizadas enteras, puncionando con la sonda en la mitad de la fruta posicionada longitudinalmente.

### *Determinación del contenido de polifenoles totales de los extractos de frutas*

El contenido de polifenoles totales en extractos de moras se determinó por el método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu (Schlesier et al., 2002). Se utilizó como reactivo una mezcla de ácidos fosfotungstácico y fosfomolibdico en medio básico, que se reducen al oxidar los compuestos fenólicos, originando óxidos azules de wolframio y molibdeno. Los extractos se prepararon con 10g de pulpa y jugo más 50 ml de agua destilada, filtrando con papel de filtro Whatman N°1 luego de un tiempo de 20 minutos de extracción a temperatura ambiente. Para la determinación, se colocaron 2 ml de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  en tubos de ensayo, 200  $\mu\text{L}$  de la muestra del extracto y 200  $\mu\text{L}$  del reactivo Folin-Ciocalteu (1:1) (Anedra, Argentina). Se agitaron los tubos en vortex y se dejaron en la oscuridad durante 30 min. Posteriormente se leyó la absorbancia del color azul desarrollado en un espectrofotómetro Shimadzu Double Bean Spectrophotometer UV-150-02 (Seisakusho Ltd., Kyoto, Japón) a una longitud de onda de 725 nm. Se realizó la curva de calibración con ácido gálico pues es el compuesto polifenólico comúnmente tomado como referencia durante el estudio de antioxidantes provenientes de fuentes vegetales (Borneo et al., 2009). Los resultados del contenido de polifenoles totales se informaron como mg ácido gálico por 100 g de fruta fresca.

### *Análisis estadístico de los datos*

Los resultados obtenidos por triplicado en cada ensayo fueron tabulados y evaluados a través de análisis de varianza ANOVA, empleando diferencias mínimas significativas de Tukey como método de comparación múltiple, con un nivel de confianza del 95,0%. Dicho análisis se realizó con el programa estadístico InfoStat (InfoStat, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina).





## Resultados y Discusión

### *Caracterización físicoquímica de los frutos en sus dos estados de madurez*

Los parámetros de altura, diámetro y rendimiento de los frutos se observan en la Tabla 1. Los valores no presentaron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) en ambos estados de madurez.

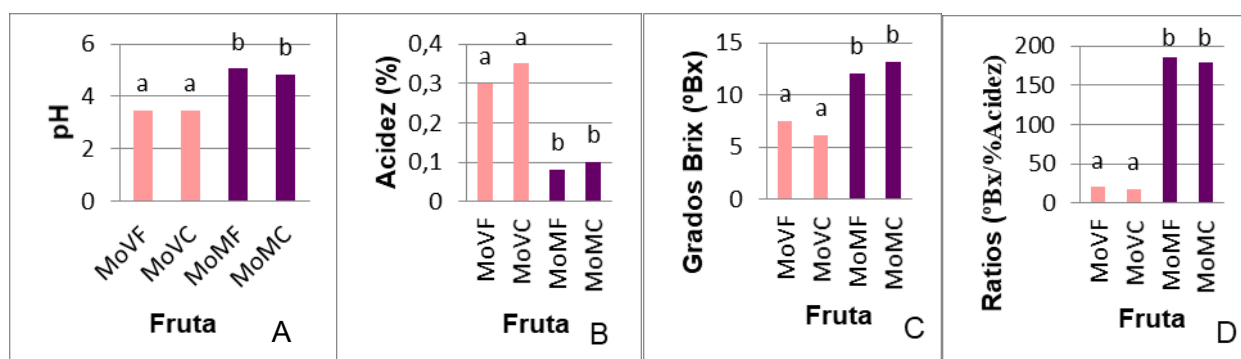
**Tabla 1. Valores de altura, diámetro y rendimiento de los frutos en los dos estados de madurez ensayados.**

Estado de madurez	Altura (mm)	Diámetro (mm)	Rendimiento (%)
Verde-maduro	21,86 $\pm$ 3,42	10,89 $\pm$ 0,91	98,99 $\pm$ 0,97
Maduro	24,89 $\pm$ 5,14	13,51 $\pm$ 1,42	99,00 $\pm$ 0,98

Los resultados sobre los valores de pH, acidez titulable, grados Brix y Ratios en las moras analizadas se muestran en la Figura 2. Estos parámetros no mostraron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) dentro de un mismo estado de madurez de las moras, para los lotes sin tratar y congelados, sin embargo se observaron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre ambos estados de madurez de las frutas, ya sea frescas o congeladas.

El pH (Fig. 2.A) de las moras presentó valores menores para verde-maduras frescas y congeladas, mostrando diferencias significativas con el estado de madurez maduro cuyos valores fueron mayores. En la Fig. 2.B. se muestra el contenido de ácidos orgánicos en las moras representados como el porcentaje de ácido málico, observándose que la acidez presentó una tendencia descendente opuesta al pH a medida que el fruto avanzó en desarrollo y maduración. Estudios realizados en diferentes variedades de moras indican que los principales ácidos presentes son el ácido málico y el ácido ascórbico (Kafkas et al., 2006), determinándose un mayor contenido de ácido málico en todas las variedades.

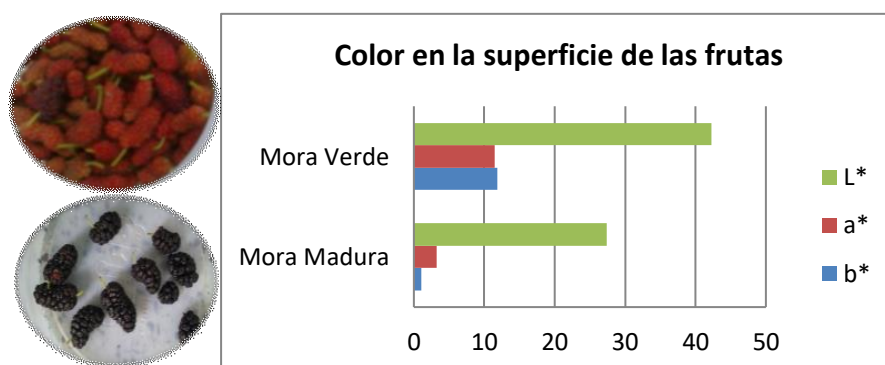
Los valores de grados Brix y ratios de las moras (Fig. 2.C y 2.D), presentaron diferencias significativas en ambos estados de madurez (verde-maduro y maduro). El contenido de sólidos solubles totales presentó un incremento directamente proporcional al grado de madurez. En moras verdes los grados Brix (Fig. 2.C) arrojaron valores menores respecto de moras maduras frescas y congeladas. Estos últimos valores fueron mayores a los reportados por Van de Velde (2016) para variedades maduras de Jumbo (5,5 $\pm$ 1), Blacksatin (7,0 $\pm$ 1) y Dirksen (6,9 $\pm$ 0,6). La relación °Bx / Acidez Titulable (Fig. 2.D), indicativa del estado de madurez (ratios) de moras maduras dieron valores muy elevados en comparación a las moras verdes lo que confirma la diferencia entre los dos estados de madurez.



**Figura 2.** Efecto del almacenamiento congelado sobre los valores de pH, acidez titulable, grados Brix y ratios de las frutas en los dos estados de madurez ensayados. Letras iguales representan que no existen diferencias significativas entre muestras.

Respecto al efecto de la congelación, la Figura 2 muestra que tanto el pH, los grados Brix como la acidez titulable de moras en ambos estados de madurez no presentaron diferencias significativas luego del almacenamiento a  $-20^{\circ}\text{C}$ .

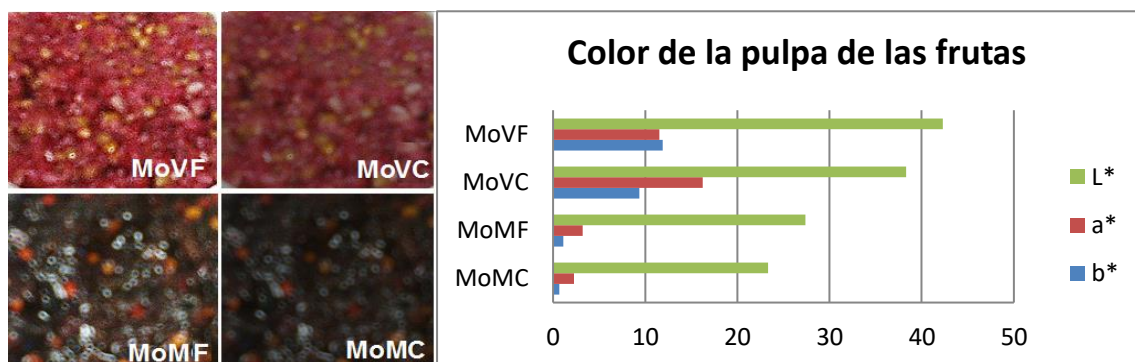
Por otro lado, la Figura 3 muestra los resultados obtenidos en la caracterización del color en la superficie de las frutas. Las moras verdes-maduras presentaron valores mayores de los parámetros  $L^*$  (42,3),  $a^*(+)$  (11,5) y  $b^*(+)$  (11,9), asociados a la luminosidad y a los colores rojo y amarillo, respectivamente, lo que es esperable por lo determinado visualmente debido a la coloración rojo claro que presenta la fruta al estado verde-maduro. Las moras maduras presentaron valores más bajos de luminosidad  $L^*$  (27,4), al igual que de los parámetros  $a^*(+)$  y  $b^*(+)$ , cuyos resultados fueron 3,2 y 3,1 respectivamente. Estos valores de color se deben al aporte de pigmentos solubles llamados antocianinas, de elevado poder antioxidante, responsables de los tonos rojos a morado de alimentos vegetales (Ríos de Souza et al., 2014).



**Figura 3:** Parámetros de luminosidad  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  obtenidos en la determinación del color en la superficie de las moras. Máx. desviación estándar 2,25%.



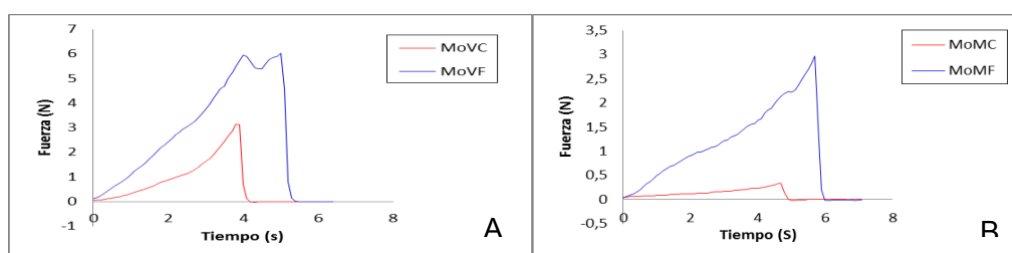
En el caso de las pulpas, el almacenamiento congelado disminuyó los parámetros  $L^*$  y  $b^*(+)$  en ambos estados de madurez (Fig. 4). Mientras que el parámetro  $a^*(+)$ , asociado al color rojo y al contenido de antocianinas, aumentó en moras verde-maduras congeladas. En moras maduras congeladas  $a^*(+)$  disminuyó lo cual puede atribuirse a que el almacenamiento a bajas temperaturas produce una modificación en la estructura de las antocianinas influenciada por la disminución de pH (Veberic et al., 2014).



**Figura 4:** Parámetros de luminosidad  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  obtenidos en la determinación del color de las pulpas de moras frescas y congeladas. Máx. desviación estándar 2,7%.

### *Análisis de las propiedades de textura de frutos y pulpas*

En la Figura 5 se muestran los perfiles de fuerza de los ensayos de punción en las moras. La fuerza máxima de punción ( $F_{\text{máx}}$ ) disminuyó en ambos estados de madurez, luego de la congelación, indicando que el almacenamiento congelado debilitó su estructura. En la Fig. 5. A. se observa que las moras verdes-maduras presentaron valores de  $F_{\text{máx}}$  de 6N para las frescas y 3N para las congeladas. En moras maduras, el efecto de la congelación fue mayor ya que los valores de la  $F_{\text{máx}}$  disminuyeron a un 10% (0,3N) del valor inicial de las frutas frescas (3N).



**Figura 5:** Efecto de la congelación sobre la textura (Fuerza de punción vs tiempo) de las moras en los dos estados de madurez.

Las moras son frutas de textura delicada por lo que la congelación y posterior descongelación provoca una pérdida de turgencia y firmeza. La velocidad de congelación es también un factor importante en el deterioro de la textura de las moras,



siendo éste menor cuanto más rápido es el proceso de congelación. Sousa et al. (2007) congelaron moras de variedad *Rubus fruticosus* L. por convección forzada con vapor de nitrógeno líquido a  $-40^{\circ}\text{C}$  y hallaron valores de  $F_{\text{máx}}$  de 2N para las frutas frescas y 1,5N luego de la congelación de las mismas.

### *Determinación del contenido de polifenoles totales de los extractos de frutas*

El contenido de polifenoles de las frutas en los dos estados de madurez (Tabla 2) fue mayor para moras maduras. El contenido de polifenoles determinado en el zumo fresco de moras maduras fue menor comparado con los valores hallados para la variedad *Rubus spp* por Ríos de Souza (2014) ( $850,52 \pm 4,77$  mg AG/100 g de fruta fresca) y mayor a valores informados por Samec y Piljac-Zegarac (2011) para la variedad *Rubus fruticosus*. ( $364,24 \pm 9,09$  mg AG/100 g de fruta fresca). Se puede observar que a medida que aumenta el estado de madurez el contenido de polifenoles aumenta ( $p < 0,05$ ), debido a su alto contenido en flavonoides que forman parte de este grupo de compuestos.

**Tabla 2.** Valores de contenido de fenoles totales de moras en los dos estados de madurez ensayados frescos y congelados.

Estado de madurez	Fenoles Totales (mg AG/100 g fruta)	
	Fruta fresca	Fruta congelada
Verde-maduro	$109,6 \pm 1,3$	$90,4 \pm 0,5$
Maduro	$491,1 \pm 1,1$	$363,0 \pm 1,4$

Luego de la congelación se obtuvieron valores menores ( $p < 0,05$ ) en el contenido de polifenoles (Tabla 2), si bien aún constituyen un elevado contenido de estos compuestos antioxidantes. Un efecto similar fue observado por Türkben et al. (2010) en moras congeladas durante 6 meses, mientras que Veberic et al. (2014) hallaron un incremento en los compuestos fenólicos al aplicar velocidades de congelación lentas, debido al mayor daño producido en el tejido lo que condujo a una mayor extracción de los mismos.

### **Conclusiones**

Los resultados indican que el método de congelación es apropiado para mantener la acidez, el pH, grados Brix, grado de madurez y elevado contenido de polifenoles de las moras durante 1 mes de almacenamiento. Por lo tanto estas frutas preservadas en estado congelado pueden considerarse para la elaboración de alimentos de alto valor nutricional, lo cual evidencia la competitividad del producto local para el mercado y elaboración de alimentos procesados.





## Referencias

- BORNEO R, LEÓN AE, AGUIRRE A, RIBOTTA P, CANTERO JJ. (2009). Antioxidant capacity of medicinal plants from the Province of Córdoba (Argentina) and their *in vitro* testing in a model food system, en: *Food Chemistry*, 112(3), 664-670.
- CHEN W, XU Y, ZHANG L, SU H, ZHENG X. (2016). Blackberry subjected to *in vitro* gastrointestinal digestion affords protection against Ethyl Carbamate-induced cytotoxicity, en: *Food Chemistry*, 212: 620–627.
- KAFKAS E, KOSAR M, TUREMIS N, BASER K.H.C. (2006). Analysis of sugars, organic acids and vitamin C contents of blackberry genotypes from Turkey, en: *Food Chemistry*, 97: 732–736.
- RIOS DE SOUZA V, PIMENTA PEREIRA PA, TEODORO DA SILVA TL, OLIVEIRA LIMA LC, PIO R, QUEIROZ F. (2014). Determination of the bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Brazilian blackberry, red raspberry, strawberry, blueberry and sweet cherry fruits, en: *Food Chemistry*, 156: 362–368.
- SAMEC D, PILJAC-ZEGARAC J. (2011). Postharvest stability of antioxidant compounds in hawthorn and cornelian cherries at room and refrigerator temperatures—Comparison with blackberries, white and red grapes, en: *Scientia Horticulturae*, 131: 15-21.
- SCHLESIER K, HARWAT M, BÖHM V, BITSCH R. (2002). Assessment of antioxidant activity by using different *in vitro* methods, en: *Free Radical Research*, 36(2), 177-187.
- SOUSA MB, CANET W, ALVAREZ MD, TORTOSA ME. (2007). Effect of processing on the texture and sensory attributes of Raspberry (Cv. *Heritage*) and Blackberry (Cv. *Thornfree*), en: *Journal of Food Engineering*, 78: 9-21.
- SUN-WATERHOUSE D. (2011). The development of fruit-based functional foods targeting the health and wellness market: a review, en: *International Journal of Food Science and Technology*, 46: 899-920.
- TÜRK BEN, C., SARIBURUN, E., DEMIR, C., UYLAŞER, V. (2010). Effect of freezing and frozen storage on phenolic compounds of raspberry and blackberry cultivars, en: *Food Analytical Methods*, 3(3), 144-153.
- VAN DE VELDE F, GRACE MH, ESPOSITO D, PIROVANI MÉ, LILA MA. (2016). Quantitative comparison of phytochemical profile, antioxidant, and anti-inflammatory properties of blackberry fruits adapted to Argentina, en: *Food Composition and Analysis*, 1:1-38.
- VEBERIC, R, STAMPAR, F, SCHMITZER, V, CUNJA, V, ZUPAN, A, KORON, D, MIKULIC-PETKOVSEK, M. (2014). Changes in the contents of anthocyanins and other compounds in blackberry fruits due to freezing and long-term frozen storage, en: *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(29), 6926-6935.